

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460146

研究課題名(和文)生理活性天然物のファーマコフォア再構築による転写機能調節化合物の創製

研究課題名(英文)Development of novel transcription modulators based on de novo design of scaffolds

研究代表者

藤井 晋也(Fujii, Shinya)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：60389179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：生物活性化合物の活性発現に必要な構造要素(ファーマコフォア)に着目し、それらを合理的に設計した骨格構造上に配置・再構築することにより、高活性かつ安定な生物活性化合物の創製法の提案を行った。生物活性としては転写制御活性に注目し、種々の化合物の設計および構造展開を行うことにより、様々な核内受容体型転写因子に対する制御化合物の創製に成功した。創製した化合物は癌などの疾患治療薬のリードとして有望であり、また開発した手法は医薬候補化合物の創製において新しいアプローチを提案するものである。

研究成果の概要(英文)：In this research, development of novel biologically active compounds based on de novo design of scaffolds, with focusing on the pharmacophores of biologically active natural products, was investigated. Based on the structures of several natural products including curcumin, various modulators for nuclear receptors such as androgen receptor and progesterone receptor were developed. The developed compounds are versatile lead compounds for drug discovery, and the methodology developed here is also a promising approach for structural development.

研究分野：創薬化学

キーワード：生物活性化合物 転写因子 ステロイドホルモン アンドロゲン受容体 プロゲステロン受容体 グルココルチコイド受容体 ケイ素

1. 研究開始当初の背景

(1) 構造生物学を基盤とした FBDD (Fragment-Based Drug Design) やコンビナトリアル合成などの技術革新により、多彩な低分子化合物が合成可能になってきた現代の創薬化学においても、天然物化合物は医薬開発における重要な化合物資源である。一方で、天然物化合物や生体内因性化合物およびその単純な誘導体は、その化学的な不安定性や生物活性標的の多彩さゆえに、医薬品として用いることが困難であることも多い。生物活性天然物の活性発現に必須の構造要素 (ファーマコフォア) を安定な骨格構造上に再構築できれば、新規医薬品リードの創製に有効であると考えられる。

(2) 転写制御は生命機能の根源を司るものであり、特異的低分子リガンドにより制御を受ける核内受容体型転写因子は、重要な魅力的な創薬標的である。アンドロゲン受容体 (AR) やグルココルチコイド受容体 (GR) に対して、これまでも多数のリガンドが創製され医薬品として応用されているが、作用選択性や薬剤耐性の面から、新規医薬候補化合物の創製が求められている。また、プロゲステロン受容体 (PR) など一部の核内受容体は、そのリガンドの医薬としての可能性が発展途上であるとも考えられる。そのため、新規骨格を有する核内受容体リガンドの創製は、転写制御の創薬化学に貢献するものである。

2. 研究の目的

上記背景より、多彩な生物活性を有する天然物化合物や不安定な内因性生理活性物質のファーマコフォア要素を基盤とし、新規に設計あるいは開発した骨格構造上に再構築することで、新規医薬リード候補化合物となる、安定で高活性かつ作用選択的な転写制御化合物の創製を目的とした。

3. 研究の方法

多彩な生物活性を持つ天然物化合物としてクルクミン (1) をリードとした化合物の設計および合成展開を行った。また、内因性不飽和脂質の安定構造への展開も検討した。さらに、ハウ素クラスターやアダマンタンといった三次元的構造を生物活性化合物のプラットフォームとして応用する検討を行った。化合物の生物活性は、核内受容体リガンド (アゴニスト) 依存的に増殖する細胞株を用いた増殖誘導/抑制試験、結合親和性試験、およびレポーター遺伝子アッセイにより評価した。

4. 研究成果

(1) クルクミンの構造要素を基盤とした核内受容体リガンドの創製

新規 AR アンタゴニストの創製

クルクミンは多彩な生物活性を有するが、本研究ではその中でも AR アンタゴニスト活性

に着目した。クルクミンの AR アンタゴニスト活性には、その構造中に含まれる 2 つのベンゼン環と少なくとも 1 個のフェノール性水酸基が必要であると仮定し、その 2 個のベンゼン環を、クルクミンの共役ポリエンに相当する堅固性と柔軟性を併せ持つリンカー構造、具体的には芳香族アミド構造およびウレア構造、スチルベン構造等を用いて連結した化合物群を設計、およそ 100 化合物を合成してその活性を評価した。その結果、4-(4-ベンゾイルアミノフェノキシ)フェノール構造を有するいくつかの化合物が有意な AR アンタゴニスト活性を示した。さらに構造展開を行い、高い AR アンタゴニスト活性を示す化合物 2 を創製した。化合物 2 は、2 種の変異 AR を有するヒト前立腺癌細胞株 (LNCaP 細胞: T877A 変異 AR、22Rv1 細胞: H874Y 変異 AR) に対しても顕著な増殖抑制活性を示し、前立腺癌治療薬創製のリード化合物として有効である (図 1)。

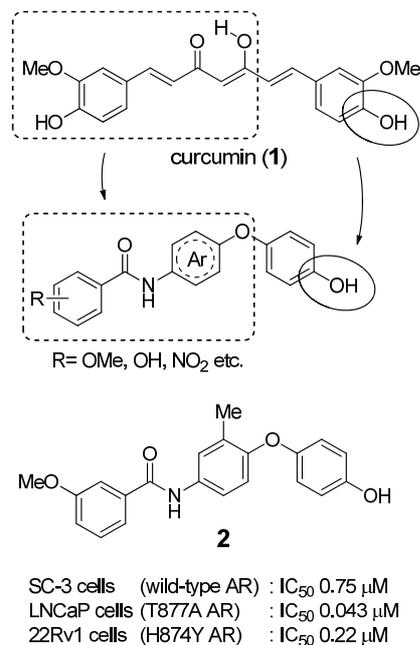


図 1. クルクミンの構造、新規 AR アンタゴニストの設計および化合物 2 の構造

PR および GR リガンドへの展開

AR は、ステロイドホルモン核内受容体スーパーファミリーの中でも特に PR と高い相溶性を有しており、既知のリガンド化合物についても交差活性を有するものも多い。そのため、上記で AR アンタゴニスト候補化合物として創製した化合物群は、PR リガンド候補化合物としても有望であるといえる。そこで、合成化合物群について PR に対する活性を評価したところ、化合物 3 などのスルホンアミド誘導体が PR アンタゴニスト活性を有することを見出した。化合物 3 などは、PR に対して高いアンタゴニスト活性を有する一方で、AR に対しては活性を示さず、PR 選

択性を有していた。さらに、化合物3からの構造展開で、高活性、高選択的な新規非ステロイド型 PR アンタゴニストの創製に成功している。

加えて、化合物3をリードとして合成展開された化合物群について、AR, PR と同様にステロイドホルモン受容体である PR に対する活性評価を行った。その結果、スルホンアミド窒素原子上にベンジル基を導入した化合物4等が GR アンタゴニスト活性を有することを見出した。化合物4等は、新規非ステロイド型 GR アンタゴニスト創製のリード化合物として有望なものと考えられる(図2)。

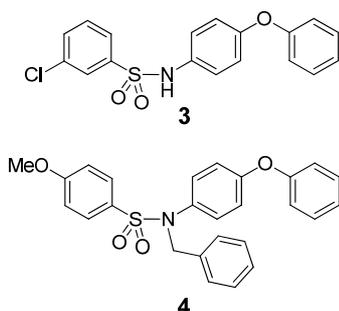


図2 . PR アンタゴニスト活性、GR アンタゴニスト活性を示すスルホンアミド誘導体

(2) 内因性不飽和脂質の安定構造への展開  
生体内には多数の不飽和脂質が存在しており、その多くは化学的に不安定な cis 型構造を有している。そのため、cis 型二重結合を化学的に安定な構造に展開する手法の開発は、生物活性化合物創製における重要なアプローチと考えられる。本研究では、cis エチレン構造 (-C=C-) と類似の結合距離を有するケイ素原子 (-Si-) に着目し、不飽和脂質の分子内 cis 二重結合をシランに置換する生物活性化合物の設計手法を提案した。

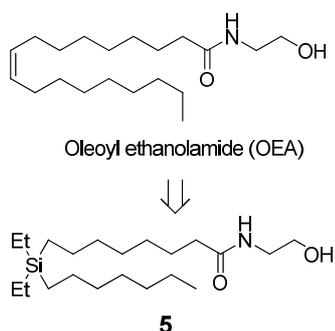


図3 . ケイ素を基盤とした脂質誘導体の設計

モデル化合物として、核内受容体ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ : peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$ ) に対するアゴニスト活性を有する内因性脂質 OEA (oleoyl ethanolamide) のシラン誘導体を種々設計、合成し、その生物活性を評価した。その結果、化合物5等が PPAR $\alpha$  および  $\delta$  に対

してアゴニスト活性を示すことを見出した。本結果は、不飽和脂質をリードとして安定な活性化合物を創製する一つの手法を提案するものであり、またケイ素などを用いた多元素創薬の有用性を示すものでもありと考えられる(図3)。

### (3) 三次元的構造の生物活性化合物プラットフォームとしての応用

我々は以前の研究で、球状の形状を有するホウ素クラスター「カルボラン」を骨格構造として用いたビタミンD受容体(VDR)リガンドの創製に成功している(参考文献1)。本研究では、その手法をさらに発展させ、カルボラン及び類似の立体特性を持つアダマンタンについて、生物活性化合物のプラットフォームとしての応用を検討した。種々構造展開を検討した結果、カルボランあるいはアダマンタンを基盤とした新規 PR アンタゴニスト6-8等の創製に成功した。

参考文献1) Fujii, S. et al. Boron cluster-based development of potent nonsteroidal vitamin D receptor ligands: Direct observation of hydrophobic interaction between protein surface and carborane. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 20933-20941.

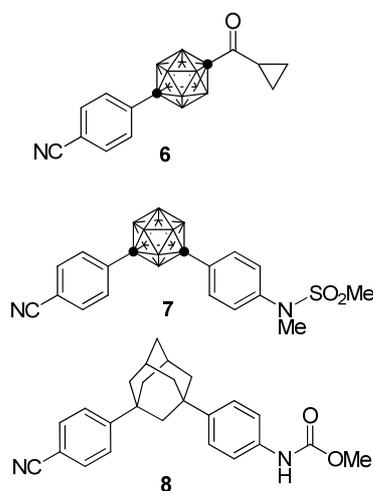


図4 . カルボランあるいはアダマンタンをプラットフォームとした新規 PR アンタゴニストの構造。(正20面体上の黒丸は炭素原子を、その他の頂点はB-Hを表す。)

上記の通り、生物活性化合物のファーマコフォアを、新たに設計あるいは開発した骨格構造上に再構築することにより、新しい種々の転写制御化合物の創製に成功した。創製した化合物は新規医薬開発のリード化合物となるとともに、提案した手法は医薬候補化合物の創製に有効なアプローチとなると期待される。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 21 件)

Toyama, H.; Sato, S.; Shirakawa, H.; Komai, M.; Hashimoto, Y.; Fujii, S.\*

Altered activity profile of a tertiary silanol analog of multi-targeting nuclear receptor modulator T0901317

*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 1817-1820.  
DOI:10.1016/j.bmcl.2016.02.231. 査読有

Kajita, D.; Nakamura, M.; Matsumoto, Y.; Ishikawa, M.; Hashimoto, Y.; Fujii, S.\*

Design and synthesis of silicon-containing fatty acid amide derivatives as novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) agonists

*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 3350-3354.  
DOI:10.1016/j.bmcl.2015.05.045. 査読有

Toyama, H.; Nakamura, M.; Hashimoto, Y.; Fujii, S.\*

Design and synthesis of novel ROR inverse agonists based on dibenzosilole scaffolds as a hydrophobic core structure.

*Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 2982-2988.  
DOI:10.1016/j.bmc.2015.05.004. 査読有

Fujii, S.; Shimizu, A.; Takeda, N.; Oguchi, K.; Katsurai, T.; Shirakawa, H.; Komai, M.; Kagechika, H.

Systematic synthesis and anti-inflammatory activity of  $\omega$ -carboxylated menaquinone derivatives -Investigation on identified and putative vitamin K metabolites-

*Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 2344-2352.  
DOI:10.1016/j.bmc.2015.03.070 査読有

Mori, S.; Takeuchi, Y.; Tanatani, A.\*; Kagechika, H.; Fujii, S.\*

Development of 1,3-diphenyladamantane derivatives as novel nonsteroidal progesterone receptor antagonists

*Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 803-809.  
DOI: 10.1016/j.bmc.2014.12.047 査読有

Fujii, S.; Sekine, R.; Kano, A.; Masuno, H.; Songkram, C.; Kawachi, E.; Hirano, T.; Tanatani, A.; Kagechika, H.

Structural development of *p*-carborane-based potent non-secosteroidal vitamin D analogs

*Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 5891-5901.  
DOI: 10.1016/j.bmc.2014.09.020 査読有

Fujii, S.; Nakano, E.; Yanagida, N.; Mori, S.; Masuno, H.; Kagechika, H.

Development of *p*-carborane-based nonsteroidal progesterone receptor antagonists

*Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 5329-5337.  
DOI: 10.1016/j.bmc.2014.07.049 査読有

Fujii, S.; Kano, A.; Masuno, H.; Songkram, C.; Kawachi, E.; Hirano, T.; Tanatani, A.; Kagechika, H.

Design and synthesis of tetraol derivatives of

1,12-dicarba-*closo*-dodecaborane as non-secosteroidal vitamin D analogs

*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4515-4519.  
DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.07.075 査読有

Fujii, S.; Yamada, A.; Nakano, E.; Takeuchi, Y.; Mori, S.; Masuno, H.; Kagechika, H.

Design and synthesis of nonsteroidal progesterone receptor antagonists based on *C,C'*-diphenylcarborane scaffold as a hydrophobic pharmacophore

*Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *84*, 264-277.

DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.07.034 査読有

Fujii, S.; Kobayashi, T.; Nakatsu, A.; Miyazawa, H.; Kagechika, H.

Synthesis and structure-activity relationship study of triazine-based inhibitors of the DNA binding of NF- $\kappa$ B

*Chem. Pharm. Bull.* **2014**, *62*, 700-708.

DOI: 10.1248/cpb.c14-00218 査読有

Fujii, S.; Kano, A.; Songkram, C.; Masuno, H.; Taoda, Y.; Kawachi, E.; Hirano, T.; Tanatani, A.; Kagechika, H.

Synthesis and structure-activity relationship of *p*-carborane-based non-secosteroidal vitamin D analogs

*Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 1227-1235.

DOI: 10.1016/j.bmc.2014.01.015 査読有

藤井晋也, 棚谷綾, 平野智也, 影近弘之  
球状疎水性ファーマコフォアを有する非セコステロイド型VDRリガンドの創製研究  
ビタミン, **2014**, *88*, 389-395. 査読有

Yamada, A.; Fujii, S.\*; Mori, S.; Kagechika, H.

Design and synthesis of 4-(4-benzoylamino-phenoxy)phenol derivatives as androgen receptor antagonists

*ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 937-941.

DOI: 10.1021/ml4001744 査読有

〔学会発表〕(計 28 件)

Fujii, S.

Development of nuclear receptor ligands based on the novel hydrophobic pharmacophore

Advances in Retinoids research.

2016年1月, ストラスブール(フランス)

Fujii, S.; Miyajima, Y.; Toyama, H.; Kajita, D.; Nakamura, M.; Kagechika, H.; Hashimoto, Y.  
Development of novel nuclear receptor modulators based on silyl functionality as hydrophobic core structure

ASMC2015 (International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry).  
2015年11月, レホヴォト(イスラエル)

Fujii, S.; Numadate, A.; Noguchi-Yachide, T.; Endo-Umeda, K.; Makishima, M.; Hashimoto, Y.  
Development of androgen receptor (AR)

activation function-1 (AF-1) modulators  
3rd International Conference on Retinoids.  
2015 年 10 月, 岐阜グランドホテル (岐阜県  
岐阜市)

Fujii, S.; Endo, Y.; Kagechika, H.; Hashimoto,  
Y.

Development of transcription modulators using  
three dimensional architectures

ICCEOCA-9, ACP2014

2014 年 12 月, クアラルンプール (マレーシ  
ア)

Fujii, S.; Iihama, S.; Kagechika, H.

Synthesis and characterization of novel  
*m*-carborane-containing porphyrinoid

IMEBORON 15

2014 年 8 月, プラハ (チェコ)

Fujii, S.; Miyajima, Y.; Masuno, H.; Kagechika,  
H.

Increased hydrophobicity and estrogenic activity  
of silicon and germanium-containing phenols.

14th Tetrahedron Symposium

2013 年 6 月, ウィーン (オーストリア)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/IMCB-8ken-HP/Index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

藤井 晋也 (FUJII, Shinya)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号 : 6 0 3 8 9 1 7 9